以Averell-Norris法分析Parathion遺毒量 P-Nitrophenol移出之必要性

梁同庭 林珍玲 劉輝雄

農業試驗所應用動物系農藥研究室

一、原理： parathion遺毒經鹼性物質，或在自然狀況下水解後，卽消失其毒力。但因其「No_2基 (radical)」仍附存於由parathion分解所生成之p-nitrophenol內，故以Averell-Norris二氏創用之「No_2基還原比色法」進行分析時，該「No_2基」仍能顯出部分顏色。故以此法所測得之parathion遺毒含有量常較其實際含量爲多，按此等「超色反應」亦不易以顏色反應時間以及反應溫度之調整而減除。爲此，本試驗乃設計一種方法，將parathion以外之「No_2基」自溶液內移出，以期避免或減少其對顏色反應之干擾。

二、方法： 本試驗係以自行栽植而在生育過程中並未施用農藥之甘藍菜葉爲試驗材料；試驗時將甘藍菜葉剝下，每組各稱300gm，平置於清潔之白報紙上；照供試菜葉之重量分別置parathion 1ppm，5ppm，及10ppm。施藥方法係將自調之50% parathion乳劑調成1ml=60，300及600 μg，各以滴管取5ml平均繪滴於菜葉之內面，在室內風乾12小時，然後分別進行以下處理：

1. 浸漬「愛美健一K」液後水洗：「愛美健一K」係一種類似中性皂液之製品(註一)，爲無色半膠狀液，其標貼上註明該液調水後，用以洗滌蔬菜，能除掉附於蔬菜上之農藥遺毒。本項處理方法以愛美健K 10gm加水至4000ml (卽0.25%濃度)，該浸液之pH爲7.08，將施藥並風乾之蔬菜，每一藥量各稱三份，卽1ppm，5ppm及10ppm藥量之蔬菜，每一藥量各稱出三份，一一浸入於愛美健K 0.25%液中。浸漬時間爲五分鐘，廿分鐘四十分鐘等三組，卽同一藥量之蔬菜浸漬時間有所不同。浸漬時以竹筷攪動使供試之蔬菜充分浸漬於浸液之中。

供試蔬菜經定時之浸漬後自浸液中取出，於自來水龍頭下冲水並洗滌兩次約計五分鐘，並予風乾，備作遺毒分析。

2. 浸漬非肥皂液後水洗：所用非肥皂爲利臺肥皂粉，其濃度亦爲0.25%，該肥皂液之pH爲9.2—9.3，藥液之調配，浸漬及冲洗之方法與上節愛美健K之方法相同。

各處理之蔬菜樣本在攪碎機(waring blander)中打碎，然後各取300gm，以600ml benzene (再蒸餾純品) 在抽出瓶內振盪一小時，迅速過濾，記其還元量。並使抽出液經過內徑5cm置有Norit-A及filter-aid混合劑之減壓淨化過濾器 (Norit-A及filter-aid之摻合比率爲7：2) 混合劑之放置量爲7gm，再以與還元液等量之benzene冲洗各容器及淨化管等。將抽出液與冲洗液合併混勻，將benzene抽出液分別移入500ml之分液漏斗內，以其液量1/3之50%sodium bicarbonate洗滌兩次，再以其抽出液半量之飽和sodium chloride洗滌三次，棄置水溶液部分，並將benzene抽出液移入於500ml之有蓋三角瓶內。加無水sodium sulfate 5gm，密蓋並大力搖動，然後迅速過濾，過濾後之抽出液及冲洗液併入於一500ml之三角瓶內。取相當100—300μg藥量之抽出液備作化學分析之用。用其餘量進行生物試驗。

本試驗共進行兩次，其第二次之benzene抽出液經淨化後卽進行分析，而未經sodium bicarbocnate及sodium chloride之處理手續。

註1：山本綜合化工廠出品：

3. 化學分析係以 Averell 及 Norris 二氏創用之NO_2基還元比色法進行分析。比色分析方法係在水溫箱中將定量之抽出液蒸發，至將乾時，再以 ethanol 10ml 溶解其殘留物，以 zinc及 hydrochloric acid水解，以sodium nitrite重氮化，再以ammonium sulfamate移去多餘之 sodium nitrite，最後以 N— (1—naphthyl) —ethylenediamine dihydrochloride 相偶聯而呈紫色反應，在波長525mμ光度下比色並推算其餘毒含量。

4. 生物試驗法係將本節各組剩餘之抽出液，分別在 50ml 量瓶內做成約略 1ml 內含 parathion 2μg之benzene溶液，經過簡單之預測試驗，並估計其含藥量後將其滴入內徑5cm高9cm之廣口瓶內，滴入量爲每瓶1、2、3、及4ml，並以 benzene補充使各瓶內之總液量爲 4ml，在室溫乾燥空氣下，置於平移振盪器上，搖盪風乾，至benzene全部蒸發淨盡且無遺留benzene之氣味爲止。將自行飼育之三日生家蠅成蟲，以CO_2使之暫時昏迷，將昏迷後之家蠅移入於備妥之試瓶內，每瓶各置家蠅20頭，每處理各做二瓶，6 小時及12小時後各檢查死亡數目一次，計其死亡率，並與標準劑毒力圖線相比較，估計各供試抽出液之含藥量，及各供試蔬菜樣本經處理後之 parathion餘留量及損失量。本試驗係在室溫 73-77°F ，濕度80—84%之環境下進行。各處理均重複兩次。歸納各次試驗結果於第一表。

三、結果與討論：

表一 *p*-nitrophenol移出對parathion遺毒分析結果之影響

處理方法		加入及還元藥量（二重複平均值）								
		1ppm			5ppm			10ppm		
		化學分析		生物試驗	化學分析		生物試驗	化學分析		生物試驗
		A*	B*		A	B		A	B	
浸愛美健K 0.25% 後冲水	5分鐘	0.51	0.07	0.05	0.56	1.38	1.18	6.35	3.00	2.89
	20分鐘	0.44	0.06	0.04	3.20	1.07	1.03	6.24	2.59	2.61
	40分鐘	0.32	0.04	0.03	2.18	0.64	0.54	5.82	1.90	1.89
浸利臺非肥皂 0.25%後冲水	5分鐘	0.37	0.06	0.04	3.75	1.14	0.84	6.25	3.47	2.62
	20分鐘	0.40	0.03	0.03	3.29	0.89	0.61	5.18	2.34	1.95
	40分鐘	0.37	0.01	0.01	2.66	0.60	0.56	6.03	1.21	1.27

註 *：A＝未移除*p*-nitrophenol，B＝移除。

自表一看出，經sodium bicarbonate處理後之parathion抽出液，再以 Averell-Norris比色法測定之遺毒量，較未經處理者爲低 ，並與生物試驗結果相接近 。故在此項分析中 sodium bicarbonate處理爲所必須。

四、參考文獻：

1. Averell P. R. &. M. V. Norris, Estimation of small amounts of parathion, Anal. Chem. 20,753 (1948) 。

2. 梁同庭、陳梅英、劉顯修，洗滌及烹調對蔬菜中parathion餘毒減低效果之研究，即將發表。

The Necessity for Removal *p*-Nitrophenol of Parathion Residue Analysis with Averell-Norris Method

T.T.Liang[1] C.L.Lin[2] H.H.Liu[3]

SUMMARY

In some cases, the method of parathion residue analysis developed by Averell and Norris usually detects more residue than is realy present. This is due to the existance of the color which results from the coupling of N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride with the reduced and diazotizated No_2 radical on the *p*-nitrophenol of parathion. But this radical is still attached to *p*-nitrophenol and remains in the extract, when the residue is hydrolized and decomposed in alkaline or in natural conditions. Therefore the *p*-nitrophenol from the extract must be removed before the development of the color.

In this experiment, the material used for removal of *p*-nitrophenol from parathion residue was 5% sodium bicarbonate solution. When the cleanup was completed, *p*-nitrophenol would have been extracted twice using sodium bicarbonate solution in a separate funnel in the volume 1/3 of the volume of the extract. Following this, came a washing using saturated sodiom chloride on volume equal to ½ the volume of extract. All the lower water portions were discarded. Then followed the procedure of analysis. The water remaining must be removed in advance with anhydrous sodium sulfate.

From the results of the experiment, when *p*-nitrophenol is removed, the residus of parathion estimated by Averell-Norris method will be lower and much closer to the results obtained from bioassay than the results obtained by the method when *p*-nitrophenol is not removed.

1. Senior Specialist, Taiwan Agricultural Research Institute.
2. & 3. Technicians, TARI.